

睡眠時ラット脳単-ニューロン活動の計測とダイナミクス解析に関する研究

著者	高橋 和巳
号	249
発行年	2002
URL	http://hdl.handle.net/10097/12945

たか はし かず み

氏名（本籍）	高 橋 和 巳	（石 川 県）
学位の種類	博 士（情報科学）	
学 位 記 番 号	情 博 第 249 号	
学位授与年月日	平成15年3月24日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
研究科、専攻	東北大学大学院情報科学研究科（博士課程）システム情報科学専攻	
学位論文題目	睡眠時ラット脳単一ニューロン活動の計測とダイナミクス解析に関する研究	
論文審査委員	（主 査）	
	東北大学教授 山本 光璋	東北大学教授 中島 康治
	東北大学教授 矢野 雅文	東北大学助教授 中尾 光之
	（工学研究科）	

論文内容要旨

1 序 論

睡眠現象は多くの生物に普遍的に見られ、その発生メカニズム、意義などについて古くから人々の考察の対象になってきた。睡眠は生物の生存にとって重要な生体機能のひとつであり、脳によってコントロールされている。それと同時に、脳の高次機能は意識のレベルの維持という基礎の上に成り立っているが、睡眠はこの意識のレベルの劇的な変化を伴うことが大きな特徴の一つである。従って睡眠を明らかにすることは脳機能そのものの解明にとっても重要である。

睡眠とこれに関わる脳の機能を探るためには、脳の機能単位であるニューロンの活動を睡眠時において直接捉えることが重要な手段となる。なぜなら、睡眠時は脳への感覚入力が遮断もしくは大幅に減弱されており、この時のニューロン活動は脳そのものが持つ性質を強く反映していると考えられるからである。そこで本研究では、意図的な刺激を与えない自然の状態の脳を観測する「博物学的視点」に立ち、睡眠時のニューロンが示す自発活動の記録実験とその解析を行う。そして睡眠現象の本質と脳の制御機構について考察する。

2 睡眠研究と低周波ダイナミクス交替現象

睡眠もしくはこれに類似した休息状態は、魚類や昆虫も含め様々な動物種で観察される。しかしそれらの状態の動物が示す特徴は、種によって大きく異なっている場合も多く、単一の基準で睡眠状態を定義することは困難である。睡眠研究の分野においては一般に哺乳類を対象として、その脳波、筋電図、眼球運動など、複数の生体信号を記録することにより、睡眠状態を判断している。睡眠状態には、脳波が高振幅の徐波を示し筋緊張が一定のレベルを保つ徐波睡眠（slow wave sleep; SWS）と、脳波が低振幅の速波を示し、筋緊張が消失して、急速眼球運動が現れる逆説睡眠（paradoxical sleep; PS）が存在する。この2相の睡眠は生物の進化上の必然性をもって生まれ、発達してきたと考えられるが、その機能的意味については、エネルギー保存、免疫増強、温熱分布の調節、大脳皮質の発達、記憶の固定、など様々な可能性が議論されている。

一方、睡眠の発現メカニズムについては近年研究が進み、前脳基底部や視床下部のニューロンとともに、脳幹のセロトニンニューロンやノルアドレナリンニューロン、アセチルコリンニューロンの関与が明らかになってきている。これら脳幹のアミンニューロン・コリンニューロンは脳の非常に広い範囲に軸索を伸ばしており、脳全体の活動を大域的に制御すると考えられている。そこで本論文ではこれらを「調節系」ニューロンと呼んでいる。そして脳幹のアミンニューロンは覚醒時に最も活発に活動し、PS時に活動をほぼ停止するのに対し、コリンニューロンはPS時、あるいは覚醒時とPS

時の両方で活発に活動することが知られている。

これまでに山本らは、中脳網様体、大脳皮質体性感覚野、6 野、18 野、視床腹側基底核、外側膝状体、視床網様核、海馬、小脳と非常に広範囲の単一ニューロン活動を睡眠中のネコから記録している。そしてそのいずれの部位においても、単一ニューロン活動の発火頻度時系列のパワースペクトルは、1Hz 以下の帯域において SWS 時には平坦であるのに対し、PS 時には $1/f$ 雑音様となることを明らかにしている（低周波ダイナミクス交替現象）。これらの部位はいずれも神経情報を直接的に処理する系であることから、本論文ではこれらを「実行系」と呼び、「実行系ニューロンは共通の性質として、睡眠時に低周波ダイナミクス交替現象を示す」という作業仮説を立てた。本研究の目的は、ラットにおいてもこの作業仮説が成り立つか否かを検証することである。

3 ラット視床後腹側核における単一ニューロン活動の記録および解析

作業仮説を検証するため、睡眠時のラットにおいて視床後腹側核 (VP) のニューロン活動記録を行った。VP は温度覚、痛覚、触覚などの体性感覚の中継核であり、こうした感覚情報の処理を直接的に担う実行系ニューロンであるといえる。まずペントバルビタール麻酔下において、ラットの頭骨、頸部筋肉、眼球周囲にそれぞれ脳波、筋電図、眼球運動記録用の電極を固定し、さらに頭部拘束用のアクリル製ブロックを頭骨に固定した。

1 週間の回復期間の後、記録実験開始の前日に頭骨の一部を除去し、12 時間の断眠を行った。断眠後 1 時間の休息をとらせた後、ブロックによって頭部を無痛的に脳定位装置に固定した。ラットの頭部、顔面全体は箱で覆い、視覚入力を遮断した。この状態でラットは睡眠・覚醒のサイクルを発現した。ニューロン活動の記録には微小ガラス管電極を用い、同時に脳波、筋電図、眼球運動をポリグラフ記録した。

記録終了後、ポリグラフ記録から睡眠・覚醒状態を判定し、覚醒、SWS、PS それぞれのエピソードから 128 秒間のデータ区間を切り出した。次に脳波の周波数解析を行い、それぞれの状態の数値的基準を満たさないデータ区間については過渡的な状態として以降の解析から除外した。ニューロン活動の発火数を 50ms 毎に計数し、その時系列のパワースペクトル密度を FFT 法により求めた。

4 ラット視床後腹側核における単一ニューロン活動の低周波ダイナミクス交替現象

2 匹のラットの VP から 29 個のニューロンが記録され、6~80 分という長時間の記録を得ることに成功した。解析可能なエピソードとして、覚醒：6 例、SWS：18 例、PS：32 例のデータが得られた。代表例を図 1 に示す。SWS 時の VP ニューロン活動の発火頻度は低く (3.2 ± 1.7 spikes/sec)、SWS の解析区間を通してあまり変動は見られなかった。これに対し PS 時には発火頻度が上昇し (14.8 ± 5.2 spikes/sec)、発火頻度時系列には数秒から数十秒程度のゆっくりとした変動が見られた。これらの発火頻度時系列のパワースペクトルは SWS 時には 1Hz 以下の帯域で平坦であり、白色雑音様の低周波ダイナミクスを持つことを示していた。これに対し PS 時には、ほとんどの例（32 例中 30 例）でスペクトルは左上がりとなり、 $1/f$ 雑音様のダイナミクスに変化していることが明らかとなった。このダイナミクス交替現象はこれまでネコでのみ観測されてきたものと同様のものである。また、一つのニューロンが示すスペクトルの傾きの程度は、同じ睡眠相であればエピソードが別であっても維持されていた。覚醒時の活動は例数が少ない（6 例）ものの、いずれも 1Hz 以下の帯域で白色雑音様のダイナミクスを示した。また、PS 時には平均発火頻度とスペクトルの近似直線の傾きとの間に相関 ($r=0.51$, $p<0.01$) が見られた。

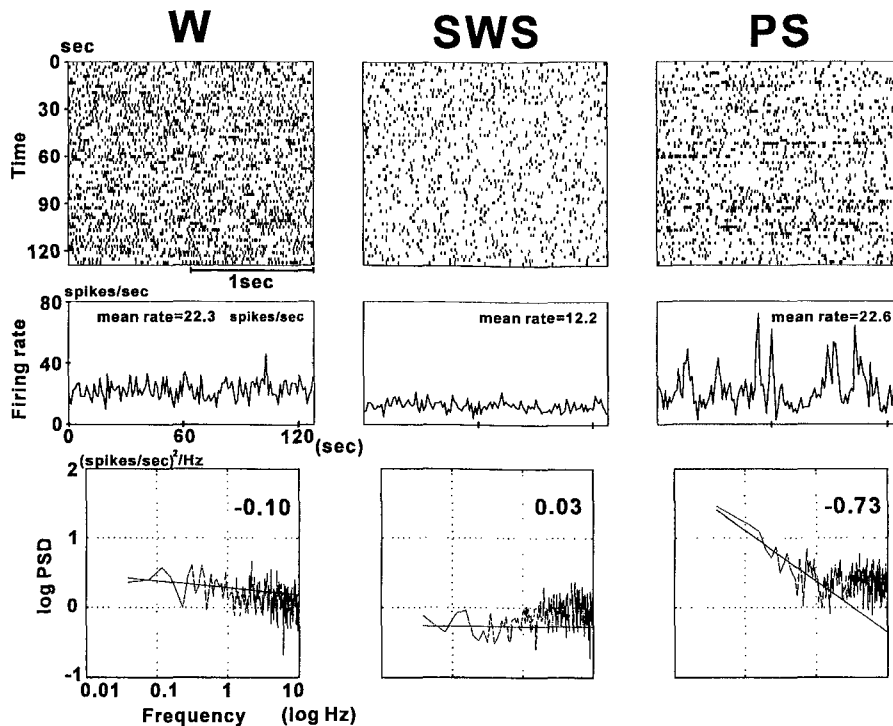


図 1：覚醒（W）時、徐波睡眠（SWS）時、逆説睡眠（PS）時のニューロン活動の代表例とそのパワースペクトル密度；発火活動のラスター表示（上段）、発火頻度（1 秒毎）の経時変化（中段）、パワースペクトル密度（下段、右上の数値は 1Hz 以下の帯域における近似直線の傾き）；覚醒時及び徐波睡眠時は発火頻度の変動があまり見られず、白色雑音様の平坦なスペクトル密度が得られた。これに対し逆説睡眠時には発火頻度にゆっくりにしたゆらぎが見られ、スペクトル密度は $1/f$ 雑音様であった。

5 低周波ダイナミクス交替現象の解釈論

本研究によって、ラットの V P ニューロンにおいても低周波ダイナミクスの交替現象が観測され、これが動物種を超えて実行系ニューロンに普遍的な特徴である可能性が強まった。

中尾らが行ったシミュレーション実験では、相互結合型の神経回路モデルにおいてその回路全体に対する一斉の抑制性入力が弱まると、回路を構成する個々のニューロン間の相互作用が顕在化してニューロン活動に $1/f$ 雑音様のダイナミクスが現れるようになることが示されている。また、ネコを用いた虫明らの薬理実験により、神経回路全体に対する制御は、脳幹のアミンニューロン、コリンニューロンなどの調節系によって行われていることが示唆されている。基本的にはこれと同様の機構がラットにおいても働いていると考えられる。つまり、SWS 時にはセロトニンニューロンなどが活動し脳全体に抑制性的影響を及ぼすことで脳全体の安定化に寄与しているのに対し、PS 時にはこの抑制が外れると同時にコリンニューロンによる活性化が起こっていることが低周波ダイナミクス交替現象の基本的な要因であると考えられる。

覚醒時に観察された白色雑音様のダイナミクスは、覚醒状態が基本的には調節系による大域的な抑制性の制御が効いた状態であることを示唆している。ただしそれは単なる抑制状態ではなく、全体を安定化しながら外部からの入力に対しては確実に応答し得る、いわば待機状態であると解釈される。

また、SWS 時の抑制され、安定化された脳の状態は、井上らが提唱する「睡眠の解毒説」に整合的である。すなわち、

睡眠促進物質でもある酸化型グルタチオンの生成過程においてフリーラジカルを解消することにより、覚醒時の活動によって発生するニューロンの障害を修復することが、脳にとって非常に重要な睡眠の役割であると考えられる。一方、PS時の脳は調節系の制御がはずされた脱抑制の状態にあり、実行系の個々のニューロンは構造上取りうるあらゆる状態をゆらぎながら遷移していると考えられる。そしてこれは、SWS時の抑制されたニューロン活動により弱体化しかけたシナプスを再活性化し、その機能を保つ役割をもつ可能性がある。脳はこのような調節系という大域的制御系を用いて非常に効率よく睡眠状態をコントロールしており、こうした高度に適応的な睡眠の発達が、逆に脳自身の発達・進化に寄与してきたと考えられる。

睡眠時の単一ニューロン活動が示すこのような低周波ダイナミクスの劇的な変化は、睡眠の本質そのものを反映している可能性があり、睡眠を定義する指標として、一般に用いられてはいるものの動物種によって多少異なる特徴を持つ脳波や筋電図などよりも、普遍的、かつ有用である可能性がある。

6 結 論

ラットのVPにおいて睡眠時のニューロン活動を記録することに成功し、そのスペクトル解析を行った結果、SWS時には白色雑音様のダイナミクスが見られたのに対し、PS時には $1/f$ 雑音様のダイナミクスが得られた。このことにより実行系単一ニューロン活動が示す睡眠時の低周波ダイナミクス交替現象は、動物種を越えて普遍的な現象である可能性が示された。

覚醒時においてもニューロン活動が記録され、その低周波ダイナミクスは白色雑音様であることが示された。これらの単一ニューロン活動の低周波ダイナミクスは、脳の大域的制御を如実に反映するものとして注目される。本研究により、睡眠現象を睡眠のみならず覚醒状態を含めた脳の状態のサイクルとして捉え、その生物学的な意義も含めて理解するための基本的なデータとその解釈を提出することができた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ネコを用いた一連の動物実験で睡眠時に観測されてきた脳内の様々な領域における単一ニューロン活動低周波ダイナミクスの交替現象が、種を越えてラットにおいても普遍的に観測される現象であることを実証するとともに、新たに覚醒時の単一ニューロン活動記録を成功させその解析を行うことにより、2種類の睡眠の存在意義と脳の大域的安定化仮説を論じたもので全編5章よりなる。

第1章は序論である。

第2章では、単一ニューロン活動低周波ダイナミクスの交替現象の背景に存在する睡眠現象について、その定義方法、系統発生、機能と発現機構等に関する従来の知見を精査している。また、実行系ニューロンの低周波ダイナミクスが、脳内を大域的に調節しているアミン系やコリン系などの調節系ニューロンによって制御されているとする神経薬理学的解釈及びニューラルネットワークモデルによる解釈について紹介している。

第3章では、実行系の一つの代表的部位としてラット視床後腹側核の単一ニューロン活動に注目した場合の動物実験結果について詳述している。まず、記録を行うための方法論を述べた上で、実験を行った結果、ネコの場合と同様に低周波域で徐波睡眠時には白色雑音様のそして逆説睡眠時には $1/f$ 雑音様のパワースペクトル密度が得られたことを述べている。また、覚醒時に記録されたニューロン活動は白色雑音様のダイナミクスを有していることを発見している。これらは、優れた研究成果である。

第4章では、実行系単一ニューロン活動の低周波ダイナミクス交替現象とその背景にある睡眠機構との関わりを論ずるとともに、脳の大域的制御機構について論じている。すなわち徐波睡眠時の大域的抑制系が優位な状態はフリーラディカルの解消による脳の回復機能をよく説明しているとしている。また、逆説睡眠時の脱抑制状態は徐波睡眠時に抑制されたシナプスの再活性化を促しているものと予想している。さらに覚醒時のニューロンが示す白色雑音様のダイナミクスは、覚醒時の脳が調節系の活発な働きによって安定化していることを示しているとする仮説を提唱している。これはアミン系による脳の大域的安定化仮説として注目すべきものである。

第5章は結論である。

以上要するに本論文は、睡眠及び覚醒時のラット脳単一ニューロン活動ダイナミクスを実験的に明らかにし、ダイナミクス交替現象の存在とその解釈が哺乳類全般に広く適用できる可能性を開くとともに、徐波睡眠と逆説睡眠の機能と脳の大域的安定化仮説について論じたものであり、睡眠科学・生体情報学及びシステム情報科学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士（情報科学）の学位論文として合格と認める。